

BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG DES NASENSEKRETES GESUNDER KINDER UND ERWACHSENER

(Diskelektrophoretische Auftrennungen,
Gesamteiweiß, IgA-, IgG-, Proteasen-
Inhibitor-, Elektrolytbestimmungen
des Sekretes von nasengesunden Kindern
im Vergleich zu Erwachsenen)

Golda Milchiker



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554616_0039

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkranke
der Universität München

Vorstand . Prof. Dr. med. E. Kastenbauer

BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG DES NASENSEKRETES
GESUNDER KINDER UND ERWACHSENER

(Diskelektrophoretische Auftrennungen, Gesamteiweiß, IgA-, IgG-, Proteasen-
Inhibitor-, Elektrolytbestimmungen des Sekretes von nasengesunden Kindern
im Vergleich zu Erwachsenen.)

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades in der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig- Maximilians- Universität
zu München

vorgelegt von
Golda Milchiker
aus München
1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.H.Eichner

Mitberichterstatter: Prof.Dr.H.H.Naumann

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.1987

Meinen Eltern gewidmet

Herrn Professor Dr. H. H. Naumann möchte ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes danken.

Herrn Professor Dr. H. Eichner danke ich herzlichst für die sehr freundliche und große Unterstützung sowie die hilfreiche Beratung bei dieser Arbeit

Herrn Professor Dr. H. Hochstraßer danke ich für die Hilfe in seinem Labor.

Ferner möchte ich mich herzlich bei Frau Lempart und Herrn Schörken für ihre Hilfe bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	1
II. Theoretische Grundlagen	5
1. Gewinnung des Nasensekretes-bisherige Methoden	5
2. Immunglobulin A	9
3. Immunglobulin G	11
4. Proteaseninhibitoren	11
5. Diskelektrophoretische Auftrennung	13
III. Experimenteller Teil	14
1. Patienten	14
2. Gewinnung des Nasensekretes	14
Die neue Abnahmemethode	
3. Ergebnisse	16
a) Sekretmenge	16
Diskussion	17
b) Gesamteiweißbestimmung	19
Methodik	19
Ergebnisse	20
Diskussion	21

c) IgA-Bestimmung	22
Methodik	22
Ergebnisse	25
Diskussion	26
d) IgG-Bestimmung	28
Methodik	28
Ergebnisse	28
Diskussion	29
e) Elektrolytbestimmungen	30
Methodik	30
Ergebnisse	30
Diskussion	31
f) Diskelektrophoretische Auftrennung	33
Methodik	33
Ergebnisse	37
Diskussion	38

g) Proteaseninhibitorwirkung	39
Methodik	39
Ergebnisse	41
Diskussion	41
IV. Diskussion der Ergebnisse	43
V. Zusammenfassung	48
VI. Literaturverzeichnis	52
Lebenslauf	

I. Einleitung

Die menschliche Nase hat vielfältige Aufgaben zu meistern.

Sie dient nicht nur als Riechorgan, sondern auch der Regulation des Atemstroms, der Erwärmung und Reinigung der Atemluft sowie deren Befeuchtung, um nur einige ihrer Funktionen zu nennen.

Da sie über die Nerven Trigeminus, Olfaktorius und Vagus innerviert wird, stellt sie ein spezifisches Reflexorgan dar, mit senso-motorisch-reflektorischen Fähigkeiten, die Kreislauf, Herz und Stoffwechsel beeinflussen. (NAUMANN 1977)

Letzters beweisen Arbeiten von OGURA und Mitarbeiter, die die Erhöhung des Lungenwiderstandes in Korrelation zur Erhöhung des Nasenwiderstandes setzten.

Ursprung und Zusammensetzung menschlichen Nasensekretes, vor allem bei Kindern, sind bislang nur lückenhaft bekannt. (NAUMANN 1977)

Die Sekretion geschieht hauptsächlich durch seröse Naseneingangsdrüsen, seromukös, gemischt tubulo-alveoläre Drüsen und Becherzellen, die im Epithelbereich liegen.

Inwieweit durch Transsudation und Exsudation Serumbestandteile ins Sekret gelangen, ist nicht eindeutig geklärt.

Um genaueres über die physiologischen Abläufe der Nasenfunktion zu erfahren, bieten sich Untersuchungen über die Nasenschleimhaut und deren Sekretzusammensetzungen an.

HOCHSTRASSER und REICHERT (1972) untersuchten den Proteaseinhibitorgehalt im Nasensekret.

Enzymatische Untersuchungen stellten hinsichtlich des Intermediärstoffwechsels im Nasensekret SCHORN und HOCHSTRASSER (1975) an.

INGELSTEDT (1947) fand, nach i.v.-Injektion und Fluorescein, bei akuten und allergischen Entzündungen eine Fluoreszenz an der Schleimhautoberfläche, im Gegensatz zu Nasenschleimhautgesunden.

EICHNER und MÜNZEL (1973) berichteten über die Inkorporation von S-markiertem Sulfat in die Nasenschleimhaut.

MYGIND (1973) beobachtete elektronenmikroskopisch die Feinstruktur der Schleimhaut der Nase.

Während NAUMANN (1959) u.a. die Resorptionsleistung der Nasenschleimhaut für nieder- und hochmolekulare, kolloidale und korpuskuläre Substanzen feststellten, diskutierten BRAUN-FALCO und MESSERKLINGER (1960) Veränderungen der Basalmembran und der Grundsubstanz bei normal und pathologisch veränderten Nasenschleimhäuten.

HILDING (1975) berichtete über Lysozymveränderungen bei Schleimhauterkrankungen mit akuter Rhinitis.

Die Beeinflussung der Nase durch das autonome Nervensystem war Gegenstand der Untersuchung von ANGGARD.

Andere wie HILDING, HUGHES, FLEMMING, ISHIZAKA (1975, 1973, 1922, 1970) u.a. untersuchten Bestandteile des Nasensekrets wie Aminosäuren, Immunglobulin A, Lysozym und Immunglobulin E.

Diese Untersuchungen, die infolge der verschiedenen Abnahmemethoden z.T. stark differieren, beziehen sich hauptsächlich auf Erwachsene.

Nasensekretergebnisse von Kindern liegen derzeit in der Literatur kaum vor.

Dies liegt sicherlich an den bisherigen Abnahmemethoden, die sehr kompliziert sind und wobei meist sehr hochverdünnte Lösungen entstanden.

Mit der neuen Abnahmemethode zur Nasensekretgewinnung nach EICHNER (1979) ist es möglich, routinemäßig auch bei Kindern Sekret zu gewinnen und es als Nativsekret direkt der biochemischen Analyse zuzuführen.

Gegenstand dieser Arbeit war es die ausgeschiedenen Mengen an Gesamteiweiß, Immunglobulin A, Immunglobulin G, Kalium, Natrium und Proteaseinhibitoren im Nasensekret von Erwachsenen und Kindern zu untersuchen.

II. Theoretische Grundlagen

1.) Gewinnung des Nasensekret - bisherige Methoden

In der fachspezifischen Literatur sind folgende Methoden zur Gewinnung menschlichen Nasensekretes beschrieben worden.

- a) Die Gewinnung des Nasensekretes durch forciertes Ausschneuzen.

Normalerweise ist die Nasenschleimhaut nur von einem dünnen Sekretfilm bedeckt, so daß mit dieser Methode bei Gesunden kein Sekret gewonnen werden kann.

Nur bei Patienten mit vermehrter Schleimproduktion z.B. bei akuten katarrhalischen Nasenschleimhautaffektionen, kann man mit dieser Methode ausreichende Mengen an Sekret erhalten.

b) Die nasale Waschung "Lavage".

Hier wird das Nasensekret durch Spülung der Nasenhaupthöhlen und Wiederauffangen der Spülflüssigkeit gewonnen. Dabei werden zwei Methoden der Spülung angewandt.

Bei der ersten wird bei zurückgelegtem Kopf die Nasenhöhle mit 5ml Aquadest und 10 ml Lactat-Ringerlösung gespült.

Dabei ist das Gaumensegel angehoben. Die Flüssigkeit wird 10-20 sec behalten. Anschließend wird die Spülflüssigkeit durch heftiges Ausschneuzen der Nase in ein Glasgefäß gesammelt. (Ishizaka 1970, Rossen 1965, Tse 1973, Turk 1970)

Bei der Methode nach Cohen, Benincaso und Smith (1970, 1973) wird ein Nasengang mit isotoner Tris-Na-Cl-Lösung gespült und gleichzeitig das Sekret mittels Einführung eines zweiten Katheters bis zum Nasopharynx am Nasenende abgesaugt. Hobday und Benincaso haben diese Methode weiter modifiziert.

- c) Gewinnung von Nasensekret durch Einlegen von Filterpapier bzw. Watte

Es werden Watte bzw. Filterpapier definierter Größe und Gewicht in die Nasengänge gelegt, und anschließend durch Puffer bzw. Kochsalzlösung eluiert.

Melon und Mygind (1968, 1975) bestimmten das Gewicht der Filterpapierstreifen bzw. der Watte vor und nach Einlage in die Nase und erhielten auf diese Weise "quantitative Absolutwerte".

Diese Methode wurde auch von Schorn (1975) und Mitarbeiter zur Bestimmung von Proteaseinhibitoren und enzymatischen Bestimmungen des Nasensekretes angewandt. Durch Eluation des an der Watte bzw. Filterpapiers haftenden Nasensekretes mit Boratpuffern, gewannen sie Lösungen niedriger Viskosität für ihre Untersuchungen.

Diese Methode jedoch weist eine Reihe von relativ großen methodischen Fehlern auf, da bei einer derartig hochverdünnten Lösung bereits geringfügige Meßfehler in den Eluatmengen bzw.

in den Gewichtsbestimmungen zu großen Fehlern in der Bestimmung der Konzentrationen der einzelnen Bestandteile des Nasensekretes führen, da sich die Absolutmenge des Nasensekretes im Mikroliterbereich befindet und die Gewichte der Reagenzgläser und der Spülflüssigkeit im Milliliter- und Grammbereich liegen.

Melon (1968) führte Trockengewichtsbestimmungen der einzelnen eingelegten Papierstreifen vor und nach Einlage in die Nase durch und entzog anschließend Wasser im Exsikator.

Um exaktere Bestimmungen zu erhalten, wurde der jeweils bestimmte Stoff auf eine Bezugsgröße z.B. auf Aluminium bzw. auf die Gesamteiweißmenge des gewonnenen Sekretes bezogen.

Wegen diesen Komplikationen und Ungenauigkeiten haben wir eine neue Methode angewandt, die erstens die Gewinnung von purem Nasensekret ermöglicht und, die zweitens, in der Klinik routinemäßig durchzuführen ist. (siehe experimenteller Teil)

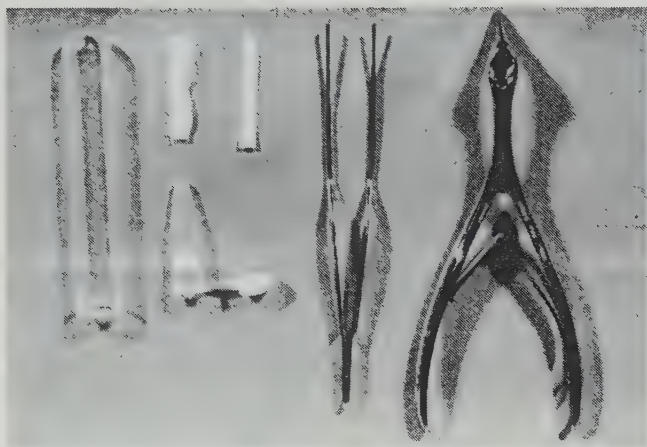


Abbildung A

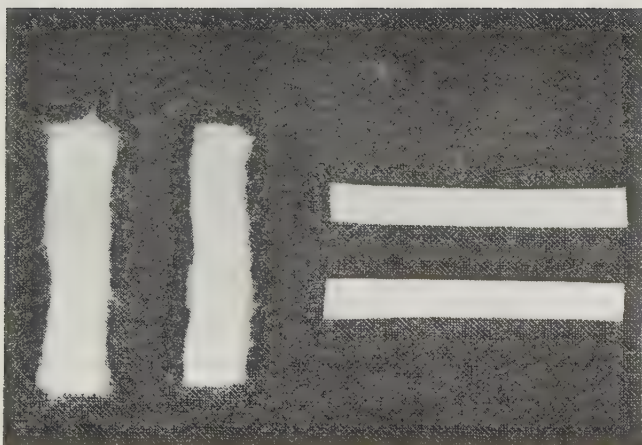
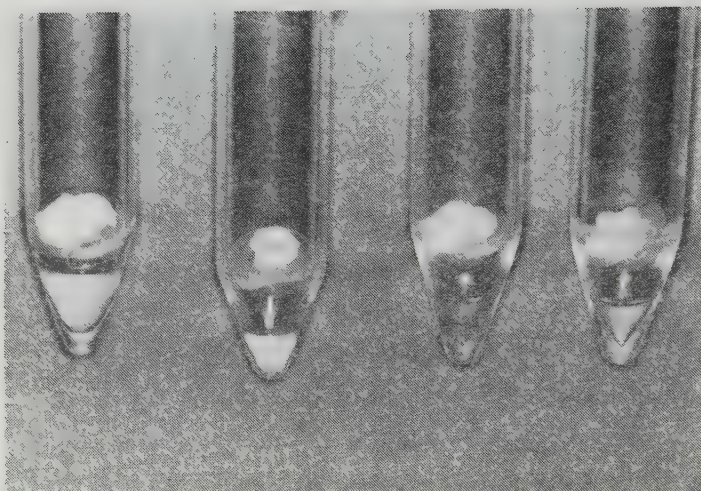


Abbildung B



Abbildung

Vier Nasensekretproben.

Die Wattetampons finden sich in dem Sieb. Nach Zentrifugation der Spitzzentrifugengläser sammelt sich in der Zentrifugenglasspitze das Nasensekret in einer Menge von 50 - 300 μ l.

2) Immunglobulin A

Das immunologische System der Schleimhäute unterscheidet sich vom Serum in seiner Immunglobulinzusammensetzung.

Dabei unterscheidet sich das Immunglobulin A im Serum und im externen Sekret wie z.B. dem Nasensekret sowohl in physikalischer als auch in struktureller Sicht.

Während IgA im Sekret nur zu einem Sechstel aller Immunglobuline vorhanden ist, macht es im Nasensekret den Hauptanteil aus. Morphologisch besteht das Sekret-Ig A aus zwei monomeren Ig A- Molekülen, die durch kovalente Bindungen untereinander sowie durch ein Glykoprotein, dem sog. "secretory-piece", das vom sekretorischen Epithel gebildet wird, und einer sog. J-Kette komplex gekoppelt sind.

Tomasi und Mitarbeiter (1968) fanden, daß durch dieses hohe Molekulargewicht das secretory-Ig A eine erhöhte Resistenz gegenüber Proteasen und deren fermentativen Abbau besitzt. (Günther 1972)

IgA wird hauptsächlich lokal produziert und bildet an der Mukosaoberfläche einen antiseptischen Schutzfilm (Sandwich, Heide 1970).

Ferner ist IgA der Haupträger der lokalen humoralen Immunabwehr der Schleimhäute. (K.Terrahe, Walsh u. Lannon, Remington et al.1966)

Seine protektiven Aufgaben liegen vor allem in der Virusneutralisation. (Bellanti 1968, Smith et al.1966)

IgA kann im Gegensatz zu IgG und IgM, Komplement nicht binden und ist deshalb für die Bakteriolyse nicht bedeutsam.

Jedoch durch die Bakteriolyse von Lysozym kann IgA zur Antigen - Inaktivierung beitragen, besonders im Tränensekret, Speichel, Sputum und Nasensekret.

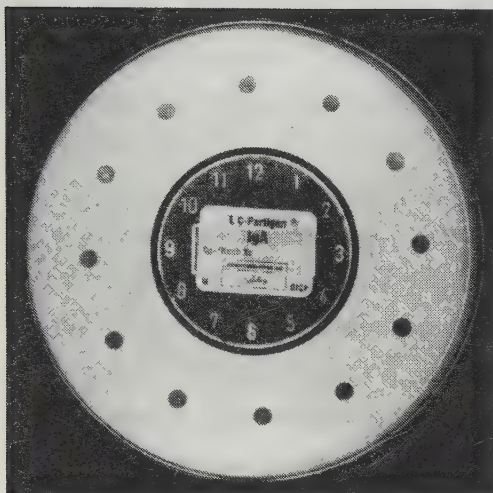


Abbildung 5

3.) Immunglobulin G

Das IgG repräsentiert den größten Teil der Antikörper des Organismus.

Im Unterschied zum IgA kommt es hauptsächlich im Serum vor, von wo es größtenteils durch Diffusion in das Nasensekret gelangt.

Deshalb kann man bei respiratorischen Infekten eine Zunahme der zirkulierenden IgG-Antikörper im Nasensekret beobachten. (Terrahe, Backwinkel 1970, Bellanti 1968)

4.) Proteaseinhibitoren

Proteaseinhibitoren sind schon seit Ende des vorigen Jahrhunderts bekannt. Ihre physiologischen Eigenschaften und ihre molekularen Mechanismen wurden aber erst in den letzten 20 Jahren verständlich.

Sie werden nach ihrem Vorkommen in Serum-, Gewebs- bzw. Sekretinhibitoren unterschieden.

Haendle und Werle berichteten über Hemmaktivitäten im menschlichen Nasensekret für die proteolytischen Enzyme Trypsin und Chymotrypsin.

Weitere Untersuchungen folgten von Hochstrasser (1974,1975) Reichert und Schorn(1976)

Bei Entzündungen werden beim Zerfall von Leukozyten oder Bakterien Proteasen freigesetzt, die Gewebe andauern und somit chronische Entzündungsprozesse aufrecht erhalten können. Als Schutzstoffe der Schleimhaut sezerniert diese niedermolekulare Proteaseinhibitoren, die Trypsin, Chymotrypsin und Elastase (je nach Art der zu hemmenden Protease) hemmen können.

Neben diesen schleimhaut - spezifischen molekularen Inhibitoren erscheinen im Nasensekret auch humorale Serum-Proteaseinhibitoren, wie α_1 -Antitrypsin, Inter- α - Trypsininhibitor und α_2 -Makroglobulin.

Dieser Inhibitorpool in den Schleimhäuten stellt ein Hemmspektrengemisch dar, dem als physiologische Funktion die Regulierung und Kompensierung der granulozytären Proteasen zuzuschreiben ist. Granulozytäre Proteasen fallen bei jeder zellulärer oder immunologischer Infektabwehr ins Gewicht.

5.) Diskelektrophoretische Auftrennung

Durch diese Färbemethode werden sämtliche Eiweißfraktionen dargestellt.

Im Gegensatz zur Papier-Acetatfolien-Elektrophorese, bei der im Serum fünf Peaks auftreten, die den Albumin, α_1 - und α_2 -, β - und γ -globulinen entsprechen, erhält man bei der diskelektrophoretischen Auftrennung ein anderes Muster.

Die α_2 -Globuline, die eine größere Molekülgröße besitzen, werden hier langsamer getrennt, dagegen wandern die β -Globuline im Gelnetz schneller.

(Maurer 1962)

Ornstein und Felgenhauer (1964, 1967) konnten dabei im Serum Präalbumin-, Albumin-, Postalbumin-, Transferrin-, Posttransferrin-, und langsame Globulin-Regionen abgrenzen.

III. Experimenteller Teil

1.) Patienten

Insgesamt wurden 83 Kinder männlichen und weiblichen Geschlechts im Alter von 3-14 Jahren untersucht, sowie 30 Erwachsene männlichen und weiblichen Geschlechts im Alter von 20-71 Jahren.

Sofern nicht gesondert angegeben, wurden Nasenschleimhauterkrankungen inspektorisch, Allgemeinerkrankungen anamnestisch und labor- chemisch ausgeschlossen.

Die Abnahme des Nasensekretes erfolgte zwischen 9-12 Uhr, um Zirkadianschwankungen zu berücksichtigen. (Ishizaka 1970, Mygind 1975, Rossen 1965, Schorn 1975)

2.) Gewinnung des Nasensekretes

Wie bereits anfangs eingehend beschrieben, waren die bisherigen Nasensekretgewinnungsmethoden sehr kompliziert, zeitaufwendig und mit großen Fehlermöglichkeiten behaftet.

Insbesondere bei Kindern wären diese Methoden kaum anwendbar. Aufgrund dieser Schwierigkeiten Nasensekret zu gewinnen, waren bisher keine routinemäßigen Absolutbestimmungen von Eiweiß- bzw. Elektrolytkonzentrationen im Nasensekret insbesondere bei Kindern durchgeführt worden.

Die neue Abnahmemethode

Es werden ohne mit der Pinzette die Schleimhaut zu berühren und ohne mit der Watte diese abzuwischen, Wattestreifen definierter Größe und definiertem Gewicht in die Nasengänge gelegt und 20 Minuten belassen. (Vgl. Abb. 1)

Danach werden die Wattestreifen in einem Spitzenzentrifugenröhrchen, das mit einem Sieb versehen ist, 20 Minuten bei 5000 Umdrehungen zentrifugiert.

Das Nasensekret sammelt sich in der Zentrifugenglasspitze an (Abb. 2).

Bei den Probanden ist es weißlich opaleszent, gelegentlich bis wasserklar, aber sehr viskös.

Nach Abschluß der Zentrifugation wird das Sieb mit dem auszentrifugierten Wattestreifen entfernt, und das in dem verschließbaren Plastikgefäß vorhandene Nasensekret kann bis auf weiteres eingefroren werden.

Im Gegensatz zu den bisherigen Abnahmemethoden steht nun zur Sekretanalyse ein reines und unverdünntes Nasensekret zur Verfügung. Dieses kann nun hinsichtlich der Eiweißzusammensetzung, des Elektrolytgehalts sowie der Immunglobulin- und Proteaseninhibitorkonzentration quantitativ und qualitativ geprüft werden.

3.) Ergebnisse

a) Sekretmenge

Die pro Nasenhaupthöhle erhaltene Sekretmenge bei Probanden schwankt bei Kindern je nach Alter und Größe der Nase wie bei Erwachsenen zwischen 50 - 300 μ l. Das Sekret ist viskös, jedoch weißlich klar.

Die durchschnittlichen Sekretmengen liegen bei Normalpersonen um ca. 170 μ l. (Abb. 3)

Sekretmenge

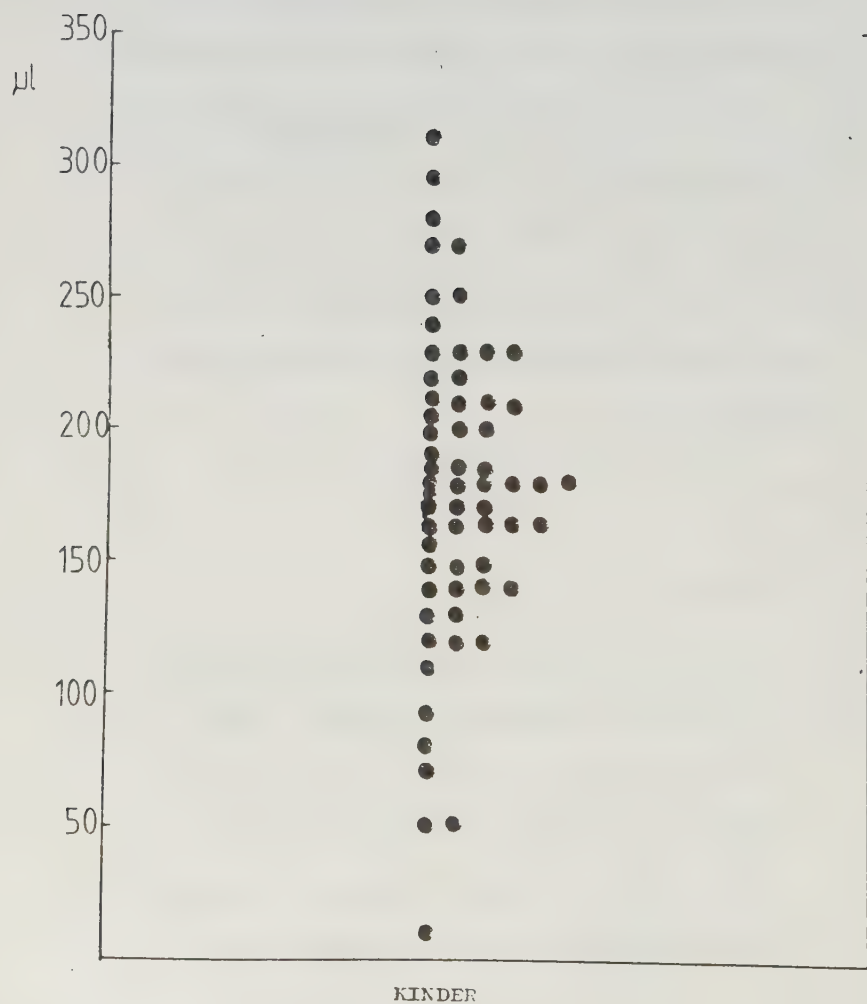


Abbildung 3

Diskussion:

Das Nasensekret wird nach Farbe , Durchsichtigkeit und Konsistenz beurteilt. Es entsteht in den Becherzellen und in den gemischten tubulo-alveolären Drüsen der Tunica propria.

Inwieweit durch Transudation bzw. Exsudation Serumbestandteile in das Sekret gelangen, ist noch nicht sicher geklärt.

Die Hauptbestandteile des Nasensekretes sind Wasser (95% - 97%), Mucin(3% - 5%), und Elektrolyte (1% - 2%), sowie Plasmaproteine und zum Teil auch Proteine, die in der Schleimhaut gebildet werden. Die Glykoproteine binden das Wasser, indem sie ein loses Netzwerk bilden. (Messerklinger 1950).

Da bisher keine Direktbestimmungen vom Nasensekret aus methodischen Gründen erfolgt sind, sind die in der Literatur angegebenen Untersuchungen und Werte nur bedingt vergleichbar und diskutierbar. Selbst bei Anwendung der Methode zur quantitativen Bestimmung nach Mygind und Melon, muß mit großen methodischen Fehlern gerechnet werden. (siehe vorher)

Darüberhinaus gibt es kaum nennenswerte Nasensekretmessungen bei Kindern.

b) Gesamteiweißbestimmung

Methodik:

Die für die Serumeiweißbestimmung routinemäßig durchgeführte Biuretmethode hat sich für die Erstellung von Eichkurven für das Nasensekret wegen seinen großen Schwankungen in der Eiweißkonzentration als nicht zuverlässig erwiesen. Deshalb mußte für die Eiweißbestimmungen eine Methode gefunden werden, die direkt die Extinktion der eingesetzten Eiweißlösung mißt, ohne vorher abgelaufene Farbreaktionen wie dies bei der Biuretmethode der Fall ist.

Mit einem DU-200 Doppelspektralphotometer der Firma Perkin-Elmer wurde nach Einsatz von 10 µl Nasensekret in einem Endvolumen von 3 ml Aquadest im Vergleich zur Referenzküvette mit reinem Aquadest gemessen und aufgezeichnet.

Als Meßbereich wurde der Bereich von 340 bis 230 nm gewählt.

Vorherige orientierende Messungen über den gesamten Meßbereich von 720 bis 200 nm zeigten, daß sich die Eiweißkonzentrationen im Bereich von 280 nm als deutlicher "Peak" messen lassen.

Nach Aufzeichnung von Eichkurven mit Standardserien, wurden anschließend anhand dieser Eichkurven die jeweiligen Nasensekret - Extinktionswerte ermittelt und daraus die Eiweißkonzentrationen berechnet.

Ergebnisse

Vor allem bei Erwachsenen wurde teilweise die Nasensekretproduktion getrennt im mittleren und unteren Nasengang der rechten und linken Nasenhöhle gemessen.

Dabei ergab sich, von einigen Ausnahmen abgesehen, daß die gewonnenen Eiweißkonzentrationen im mittleren Nasengang in der Regel niedriger sind als im unteren Nasengang.

Die Eiweißkonzentrationen betragen bei Erwachsenen zwischen 400 mg% und 3600 mg%. (Abb. 4)

Die Durchschnittswerte im unteren Nasengang lagen bei 1360 mg%, im mittleren Nasengang bei 930 mg%.

Der Vergleich zwischen rechter und linker Nasenhaupthöhle war annähernd gleich.

Setzt man die Sekretmenge im Verhältnis zur Eiweißkonzentration, dann fällt auf, daß mit steigender Sekretmenge die Eiweißkonzentration linear abnimmt.

Die Eiweißkonzentrationen bei Kindern liegen zwischen 150 - 2800 mg%, wobei die Durchschnittswerte bei 1300 mg% liegen. (Abb. 4)

Diskussion

Zwischen Erwachsenen und Kindern ist die durchschnittliche Gesamtproteinkonzentration annähernd gleich.

Die Diskelektrophorese konnte keine qualitativen Besonderheiten bezüglich der Eiweißbandenstruktur des Sekretes im Vergleich mittlererem zu unterem Nasengang aufweisen, sodaß es sich bei der Eiweißkonzentrationserhöhung im unteren Nasengang um einen Sekreteindickungseffekt handeln dürfte.

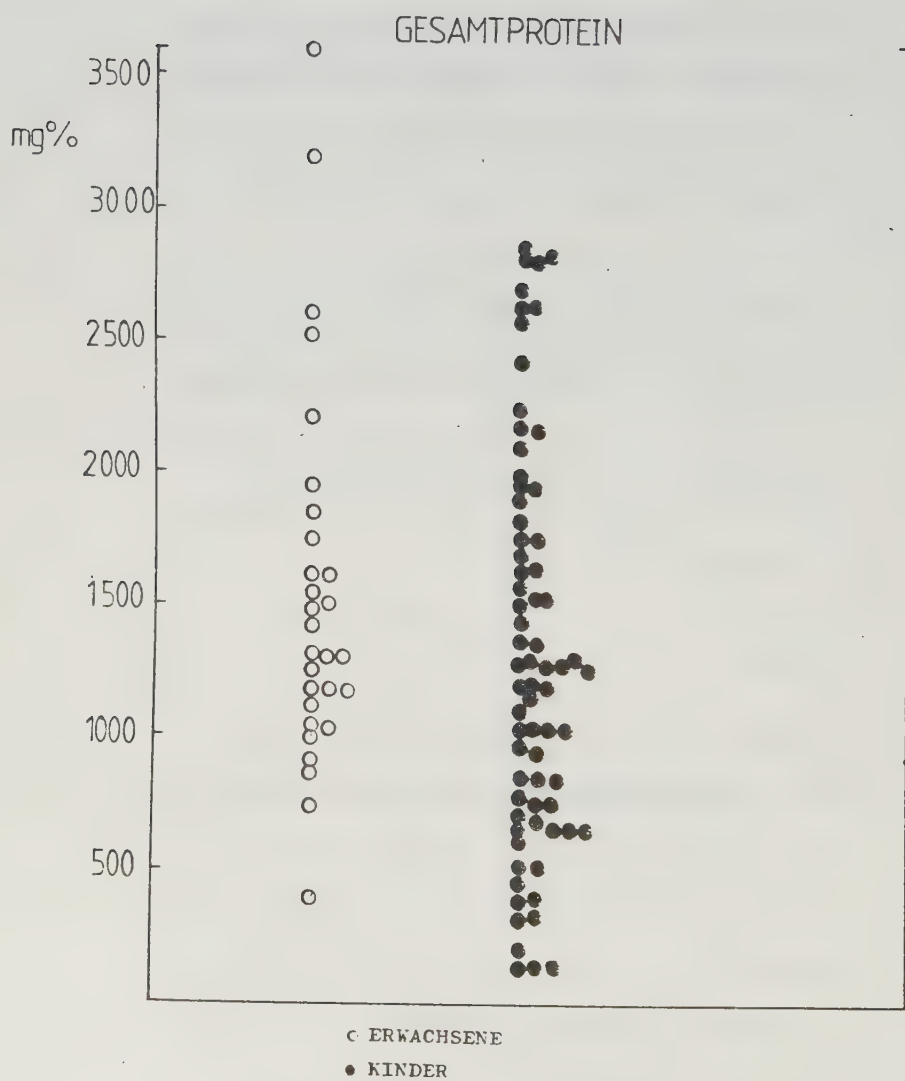


Abbildung 4

c.) IgA- Bestimmung

Methodik

Für die IgA- Beurteilung wurden TRI- Partigen- IgA-Immundiffusionsplatten der Firma Behringwerke AG verwendet, mit denen man Plasmaproteine quantitativ bestimmen kann.

Die Platten enthalten gegen das zu bestimmende Globulin ein monospezifisches Antiserum, das bereits in einer gebrauchsfertigen Agargelschicht gelöst ist.

In dieser sind 12 Auftragsstellen eingestanzt, in die die jeweiligen Nasensekretproben eingefüllt werden.

Das Prinzip der Methode beruht auf einer Antigen - Antikörper- Reaktion, wobei die im Nasensekret enthaltenen Antigenmoleküle radial in die Agargelschicht diffundieren, und Präzipitationsringe mit dem im Gel vorhandenen homologen Antiserum bilden.

Die Durchmesser der Präzipitationsringe, die nach einer bestimmten Zeit abgelesen werden, sind der Menge des Antigens und damit des zu bestimmenden Proteins bei angegebener Antiserumkonzentration direkt proportional.

Der Hauptmeßbereich dieser Immundiffusionsplatten für IgA liegt bei 27 - 350 mg%. Die Auftragsstellen 1-3 werden mit den für TRI-Partigen IgA vorgesehenen drei Standardverdünnungen, die im Meßbereich der Platte liegen, gefüllt.

Eventuelle notwendige Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Die restlichen Auftragslöcher wurden mit je 5 μ l der jeweiligen Nasensekretprobe gefüllt.

Es ist darauf zu achten, daß die definierte Volumenmenge exakt und ohne die Agargelschicht zu verletzen eingefüllt wird, wozu sich eine Hamilton-Pipette am besten eignet.

Die Platten werden nach Beschichtung 20 min belassen.

Anschließend werden sie mit dem Kunststoffdeckel fest verschlossen und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach einer Diffusionszeit von zwei bis drei Tagen können die Präzipitationsringe mit einer dafür vorgesehen Meßvorrichtung (Meßlupe, Meßlineal) bei seitlicher Beleuchtung vor einem dunklen Hintergrund auf 0.1 - 0.2 mm genau abgelesen werden. (Abb. 5)

Die Berechnung der einzelnen IgA-Konzentrationen erfolgt nach Aufzeichnung einer Eichkurve, die sich aus den Standardseren mit ihren bekannten Konzentrationen ergibt. Anhand dieser Werte werden die gesamten IgA-Konzentrationen durch Quadrierung der Durchmesser der Präzipitationsringe ermittelt.

Abszisse: Antigenkonzentration in mg%

Ordinate: Quadrate der Ringdurchmesser in mm

Im Idealfall erhält man eine Gerade als Eichkurve, auf der die Konzentrationen der Proben bezogen werden.

Ergebnisse

Bei den IgA- Konzentrationen fanden wir Werte zwischen 6 mg% und 111 mg% mit einem Durchschnittswert von ca. 50 mg% bei gesunden Erwachsenen.

Bei den IgA-Konzentrationen der Kinder ergaben sich Werte von 8 mg% bis 138 mg%, mit einer durchschnittlichen Verteilung um 55 mg%.

Der IgA Anteil in % bezogen auf das Gesamtprotein lag bei den Erwachsenen zwischen 2.1 % und 3,8 %.

Bei den Kindern konnte eine größere Schwankungsbreite verzeichnet werden, nämlich zwischen 2,0 % und ca. 6,5 %. (siehe Abb. 6)

Eine getrennte Analyse zwischen rechter und linker Nasenhaupthöhle war nicht notwendig, weil im Vergleich keine wesentlichen Differenzen in den IgA- Konzentrationen zu verzeichnen waren.

Doch ähnlich den Eiweißkonzentrationen gibt es eine lineare Korrelation zwischen Sekret-IgA- und Nasensekret-Menge.

Diskussion

Ähnlich den Gesamtproteinkonzentrationen ergeben sich auch bei den IgA- Konzentrationen, sowohl bei den Erwachsenen als auch bei den Kindern, ob gesund oder vor bzw. nach Adenektomie, große interindividuelle Schwankungen bei den einzelnen Probanden.

Anhand der Abbildung läßt sich erkennen, daß die durchschnittliche Verteilung des IgA bei Kindern und Erwachsenen annähernd gleich ist.

Die Verteilung des IgA %-Anteils am Gesamtprotein scheint bei den Kindern jedoch etwas höher zu liegen. (siehe Abb. 7)

Diese in dieser Untersuchung gewonnenen Werte sind mit denen in der Literatur angegebenen Werten nur bedingt vergleichbar, weil jene Befunde nicht sehr zahlreich sind und sich zum Teil auf sehr geringe Fallzahlen stützen.

Die von uns ermittelten IgA-Werte bei Erwachsenen liegen annähernd im gleichen Bereich wie die von ISHIZAKA, MYGIND, TSE, LORIN und BAUMANN angegebenen.

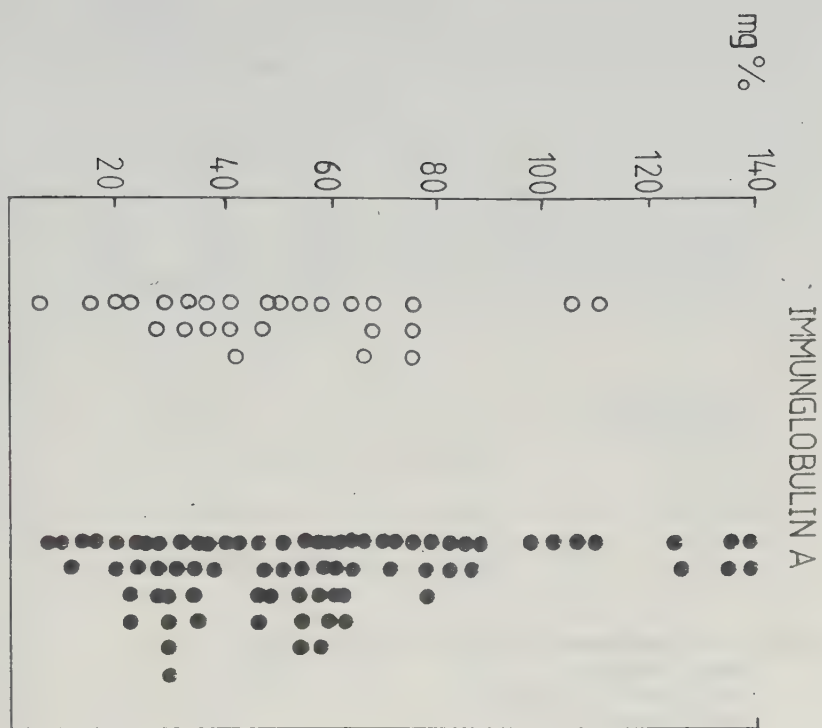


Abbildung 6

Ig A in % des Gesamtproteins

%
Protein

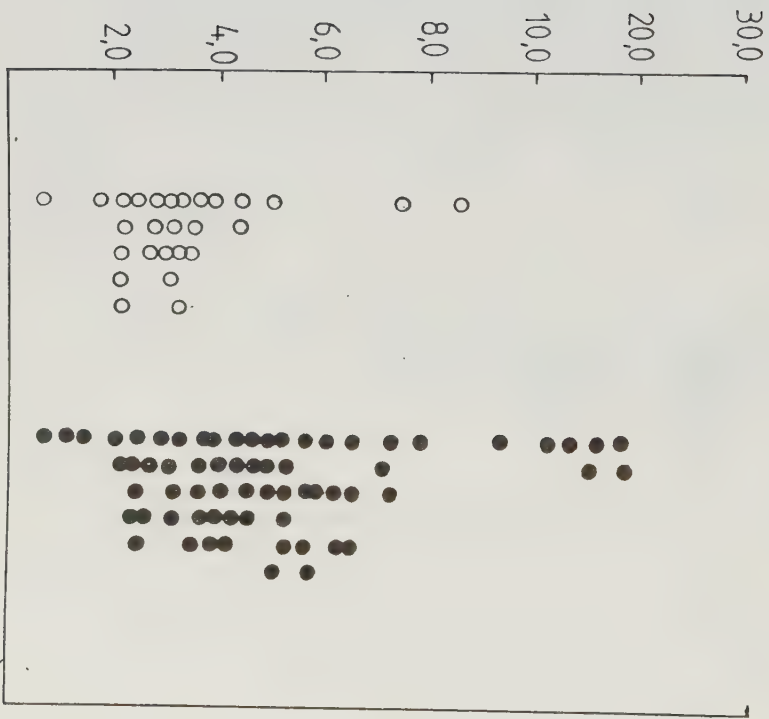


Abbildung 7

d.) IgG- Bestimmung

Methodik

Zur IgG-Bestimmung wurden TRI- Partigen- IgG- Immundiffusionsplatten der Firma Behringwerke AG verwendet.

Das Prinzip, die Methode sowie die Durchführung der Untersuchung entspricht den gleichen Richtlinien wie für die Bestimmung der Immunglobulin A - Konzentrationen. (siehe dort)

Selbstverständlich werden in diesem Fall Ig G- Standardseren verwendet.

Der Hauptmeßbereich der TRI- Partigen- Ig G- Platte liegt bei 16,4 - 197 mg%.

Ergebnisse

Die Immunglobulin-G-Konzentrationen schwanken bei nasenschleimhautgesunden Erwachsenen zwischen 12 mg% und 366 mg%.

Bei Kindern ergaben sich Werte von 4 mg% bis 370 mg%. (Abb. 8)

Diskussion

In der Literatur gibt es kaum konkrete Werte über Ig G Konzentrationen. Darüberhinaus sind die Untersuchungsbedingungen nicht mit den unserigen identisch und deshalb für einen Vergleich relativ ungeeignet.

Bei den Erwachsenen und Kindern konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Lediglich lag die Durchschnittsverteilung des Ig G der Kinder mit ca. 55 mg% tiefer als die der Erwachsenen mit 120 mg%.

Der % - Anteil am Gesamtprotein bei Erwachsenen lag zwischen 1,4 % und 17,7 %.

Bei den Kindern lag er zwischen 1,9 % und 45 %. Anhand der Abbildung lassen sich zwei Häufigkeitsbereiche um 4 % und 15 % erkennen. (Abb. 9)

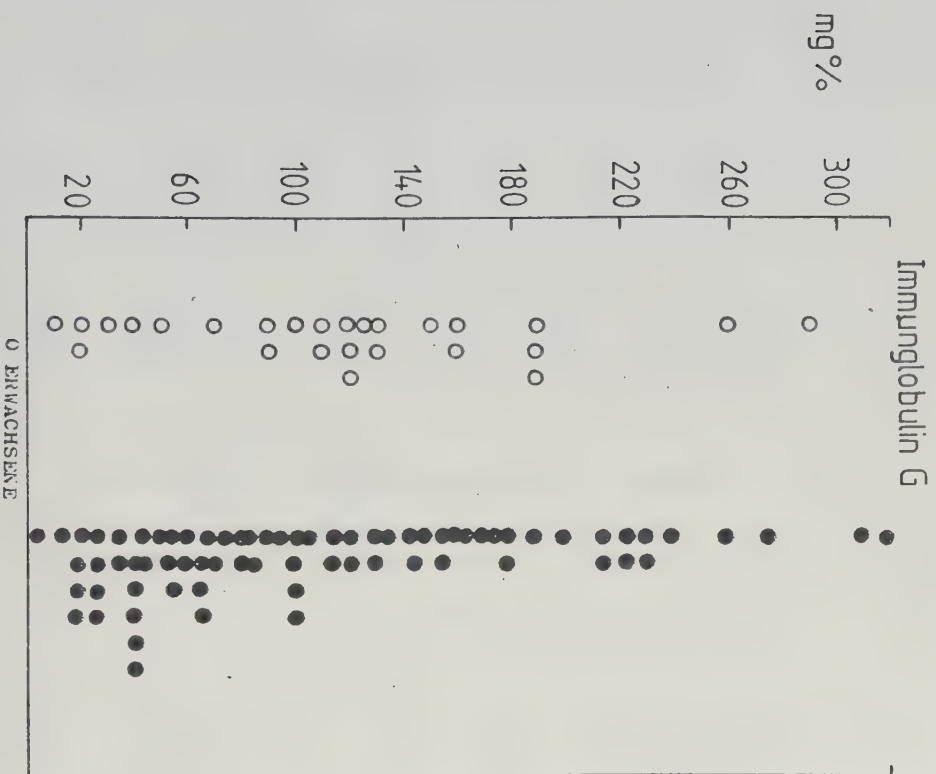
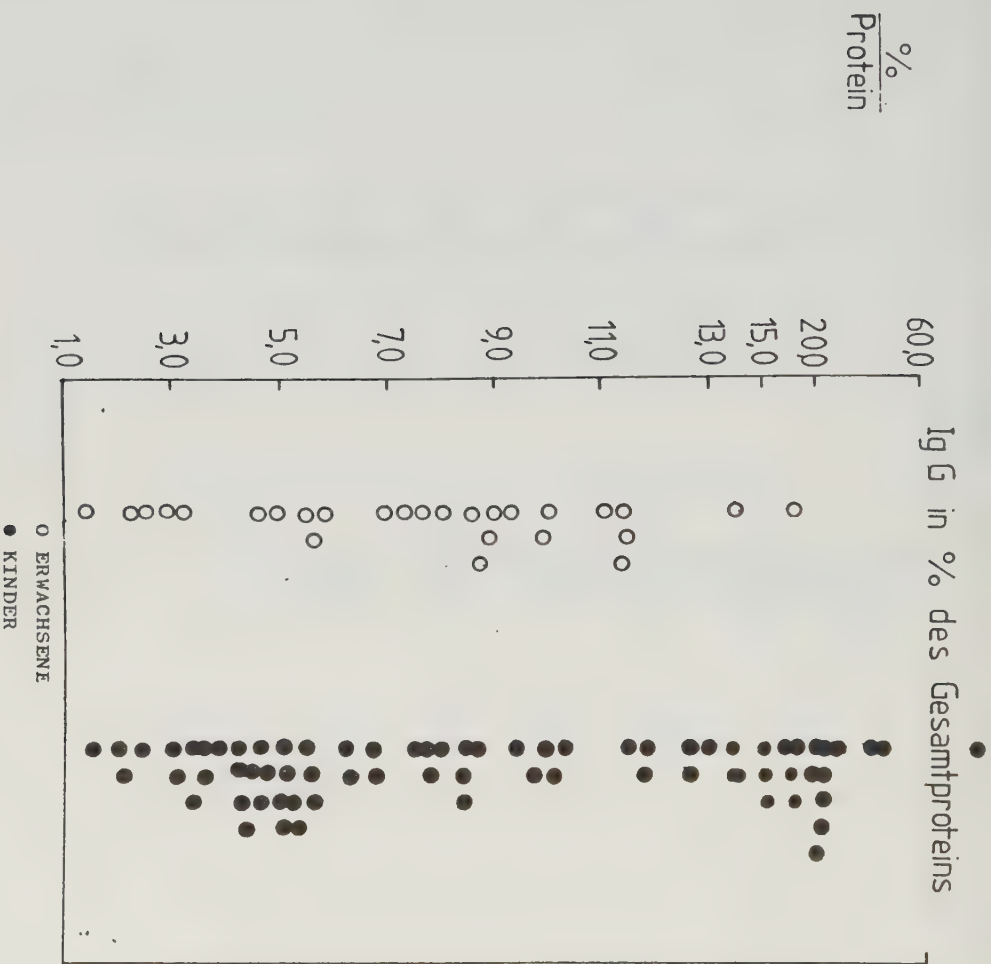


Abbildung 8



e.) Elektrolytbestimmungen

Methodik

Die Elektrolytbestimmungen für Natrium und Kalium wurden mit einem Eppendorf-Flammenphotometer analog den Serumelektrolytbestimmungen durchgeführt. Da das Gerät für die Bestimmung von Serumelektrolyten eine andere Empfindlichkeit besitzt, mußten neue Eichkurven für die Nasensekretelektrolyte erstellt werden.

Für eine genaue Bestimmung der Elektrolyte war eine Menge von 50 μ l des jeweiligen Nasensekretes notwendig.

Ergebnisse

Natrium:

Die Natriumkonzentrationen schwanken im Sekret von Kindern zwischen 71 mval und 160 mval, mit einem durchschnittlichen Wert um 125 mval.

(Abb. 10)

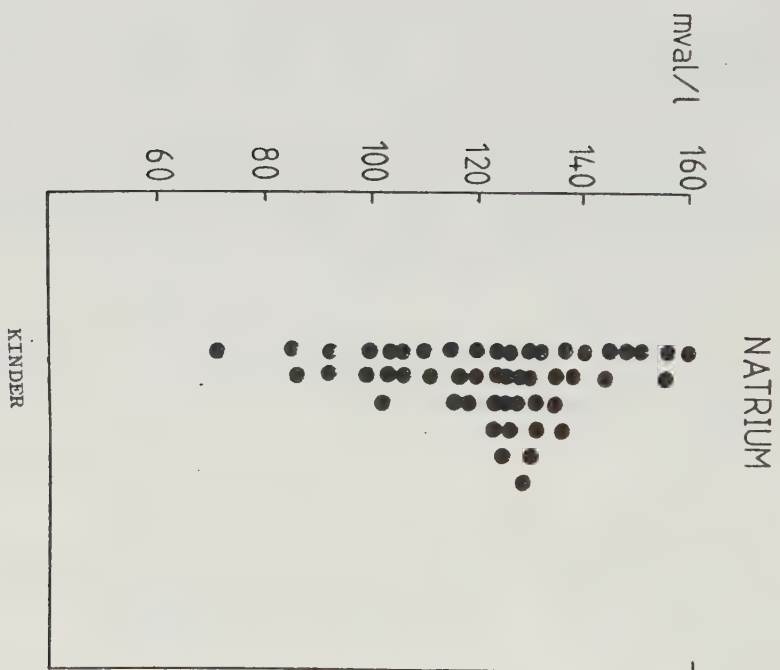


Abbildung 10

Kalium:

Die Sekret - Kaliumkonzentrationen liegen wesentlich höher als die Serum - Kaliumkonzentrationen.

Im Nasensekret bei Kindern finden sich Werte von 3 mval und 36 mval, mit Durchschnittswerten um ca. 18 mval. (Abb.11)

Diskussion

Die bisherigen Elektrolytbestimmungen zeigen, daß die Schwankungsbreite für Natrium und Kalium relativ groß ist.

Außer einer Untersuchung von Eichner u.a., bei der bei normalgesunden Erwachsenen Werte für Kalium im Bereich von 6-28 mval, mit einem Durchschnittswert um 12 mval, und für Natrium im Bereich von 90 - 148 mval, mit einem Durchschnittswert um 120 mval festgestellt wurden, existieren keine Vergleichsstudien in der Literatur.

Verglichen mit den von uns gewonnenen Ergebnissen bei Kindern, lassen sich keine

signifikanten Unterschiede in den Elektrolytwerten zwischen Kindern und Erwachsenen verzeichnen.

Es ist in weiteren Untersuchungen zu klären inwieweit spezifische Elektrolytveränderungen bei einzelnen Krankheitsbildern auftreten.

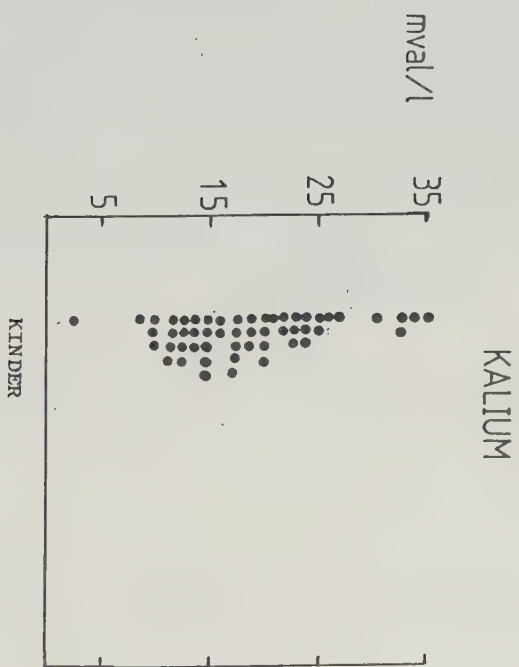


Abbildung 11

f.) Diskelektrophorese

Methodik

Die diskoelektrophoretische Auftrennung wird mit einem 7.5% igen Acrylamid-Mittelpor-Gel bei einem ph von 8.9 durchgeführt.

Für die Herstellung der Gelröhrchen werden folgende Lösungen verwendet:

Lösung 1: 48 ml 1N Salzsäure
36.6 g TRIS (Tri-methyl-amino-
methan)
0.23 ml Temed (Tetra-methyl-
ethylen- diamin)
auf 100 ml Aquadest

Lösung 2: 30 g Acrylamid Fa. Serva
 0.8 g Biacrylamid Fa. Merck
 auf 100 ml Aquadest

Lösung 3: 0.14.g Ammonium-persulfat
auf 100 ml Aquadest

Während die Lösungen 1 und 2 schon Tage im voraus angesetzt werden können, muß die Lösung 3 täglich zubereitet werden.

Diese drei Lösungen werden wie folgt zusammen-
gemischt:

1 Teil Lösung No: 1

2 Teile Lösung No: 2

1 Teil Aquadest

4 Teile Lösung No: 3

Diese Mixtur wird in die Glasröhrchen gefüllt,
die an einem Ende mit Zellufan-Folie verschlos-
sen sind.

Anschließend werden die Gele vorsichtig mit
Aquadest überschichtet, damit der Gelspiegel im
Laufe der Polimerisation keinen Meniskus bil-
det, sondern eben bleibt.

Die Gele werden nun zur Polimerisation über
Nacht stehengelassen.

An das untere Ende der gebrauchsfertigen Disk-
röhrchen wird mit Hilfe einer Spritze ein Trop-
fen der Laufpufferlösung angebracht.

Nun werden die Röhrchen vorsichtig in die mit "Laufpuffer" halb gefüllten Diskelektrophoresewanne gesenkt.

Jetzt wird das freie Ende eines Röhrchens etwas mit Laufpuffer gefüllt und anschließend wird dieses vorsichtig mit 5ul vom jeweiligen Nasensekret, dem zuvor 5ul Indikatorlösung zugegeben worden war, unterschichtet. Am besten eignet sich dazu eine Eppendorf- Pipette.

Jetzt wird mit demselben "Laufpuffer" die Wanne vorsichtig gefüllt, sodaß alle Röhrchen von diesem Puffer bedeckt sind. Schließlich wird die diskelektrophoretische Apparatur an das Stromnetz geschaltet.

Dabei wählt man 5 mA pro Diskröhrchen als einzustellende Stromstärke.

Der Indikator besteht aus Bromphenol und Saccharose; der "Laufpuffer" setzt sich aus einer Verdünnung von 1 Teil einer Lösung

mit:

6 g TRIS

28.8 g Glycin auf 100 ml Aquadest

und 10 Teilen Aquadest zusammen.

Wenn die Indikatorbande das untere Fünftel des Röhrchens erreicht hat, werden die Gele aus den Röhrchen gelöst und mit 5 Teilen 1% Comassie - Brilliantblaulösung sowie 95 Teilen 10% TCA (Trichloressigsäure) 24 Std. lang gefärbt.

Anschließend werden die Gele mit 7% iger Essigsäure, die mehrmals gewechselt wird, entfärbt.

Ergebnisse

Bei der Auftrennung des Nasensekretes findet sich im Vergleich zum Serum ein unterschiedliches Bandenmuster.

Im kathodennahen Gelbereich, der den Makroglobulinen und Haptoglobinen im Serum entspricht, stellen sich drei scharfe Banden dar, die den unbekannten Glykoproteinen und den "secretory-IgA" entsprechen.

Die relativ dichteste Zone, die im Serum dem IgG entspricht, stellt sich im Nasensekret nicht so intensiv dar.

Die Transferrinbande stellt sich ebenfalls im Nasensekret dar; sie ist jedoch meist doppelgipfelig, d.h. im Posttransferrinbereich des Nasensekrets tritt häufig eine zweite Bande auf, was im Serum nicht der Fall ist.

Im Serum tritt immer die Präalbuminbande auf, wohingegen im Nasensekret kaum Banden in der Prä- und Postalbuminregion festzustellen sind.

Diskussion

Die diskelektrophoretische Auftrennung ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden.

Mit ihr lassen sich Proteine mit einem Molekulargewicht von 10^4 - 10^6 auftrennen.

Dabei wiesen die Konzentrationen der Proteine große interindividuelle Schwankungen auf. Wie im Serum so auch im Nasensekret lassen sich Albumin- und Transferrinbande erkennen.

Obwohl die Diskelektrophorese mit ihrer hohen Auflösungskraft nasenspezifische Bandenmuster aufweist, kommt es doch zu einer starken Überlagerung durch Serumproteine, deutlich erkennbar an der Albuminbandenzeichnung, der Transferrinbande und den Immunglobulinbereichen.

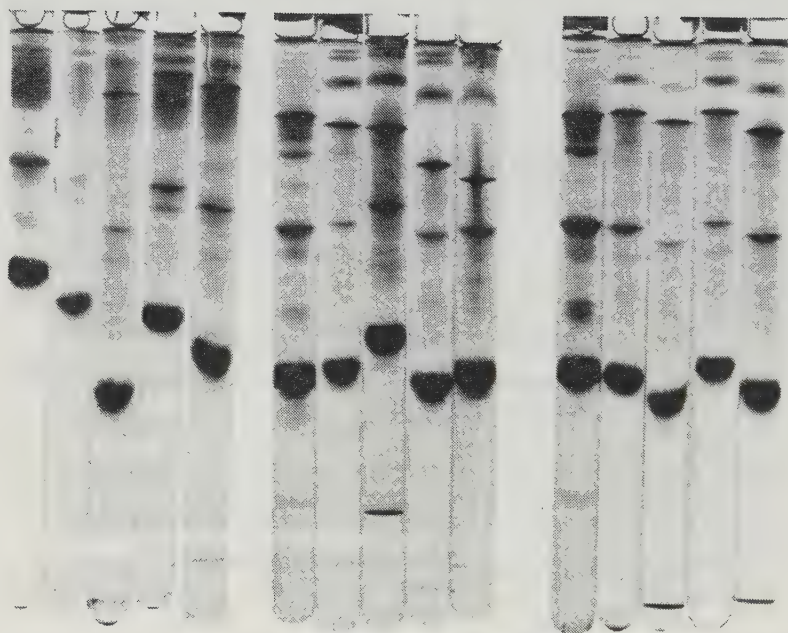


Abbildung 12

Deshalb bestehen erhebliche Schwierigkeiten sekretspezifische Eiweißstoffe in der Sekret-elektrophorese von überlagerten Serumproteinen zu unterscheiden.

In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, inwieweit durch spezifische Serumeiweiß - Präzipitation spezifische Nasensekretproteine isoliert und elektrophoretisch aufgetrennt werden können.

g.) Proteaseninhibitorwirkung

Methodik

Es wird gemessen inwieweit, die durch definierte Trypsinmengen bewirkte Spaltung von n- Benzoyl-Arginin-p-Nitroanilid "BAPA" durch entsprechende Nasensekretmengen gehemmt wird.

Dazu werden zunächst 50 µl Nasensekret mit 300 µl Aquadest und 5 µl TCA 70% (Tri- chlor- essigsäure) gemischt und 20 min bei Raumtemperatur stehengelassen.

Anschließend wird 5 min lang zentrifugiert und von dem sich gebildeten Überstand 320 μ l (Kinder 300 μ l) entnommen und in ein Zentrifugenspitzenröhrchen gegeben.

Jetzt wird zweimal mit je 5 ml Äther ausgeschüttelt und der Ätherrest im Exsikator abgesaugt.

Nun werden 400 μ l (Kinder 200 μ l) 0.4 m TRA (Triätholamin-Puffer) pH 7.8 dazugegeben, gemischt und zentrifugiert.

Der für die Untersuchung notwendige Leerwert wird wie die Probe angesetzt, nur statt Nasensekret wird Aquadest hinzugegeben.

Inkubationsansatz für den "Trypsinhemmtest":

70 μ l Trypsin gelöst in 1.25 ml einer 2 normalen HCL-Lösung werden zusammen mit 200 μ l Nasensekret und 400 μ l Triätholamin - Puffer (TRA) 5 min bei 25 vorinkubiert.

Anschließend werden 330 μ l Substat BAPA hinzugegeben und die Extinktionszunahme pro Minute in einem Eppendorff-Photometer bestimmt.

Im Vergleich zum Trypsin- Leerwert ergibt sich der Gehalt an inhibitorischer Aktivität.

Ergebnisse

Es wurde zunächst nur die inhibitorische Aktivität für Trypsin bestimmt. Im gesunden Nasensekret Erwachsener werden Inhibitormengen zwischen 20 und 310 Inhibitor IU/ml Nasensekret gefunden.

Bei Kindern ergaben sich Werte von 5 IU/ml bis 650 IU/ml.

Diskussion

Die oben angegebenen Inhibitormengen für Erwachsene entsprechen in etwa den Werten, die Eichner (1983) gefunden hat (40 - 200 IU/ml).

Für die Protease-Inhibitoren gibt es bisher noch keine Absolutbestimmungen im Sekret bei Kindern.

Bei den Werten der Kinder ist im Vergleich zu den Erwachsenen ein deutlicher Anstieg der Inhibitoreinheiten zu verzeichnen.(siehe Abb. 13)

Es finden sich allerdings in beiden Gruppen ziemlich große interindividuelle Schwankungsbreiten.

Bezogen auf das Gesamtprotein ergibt sich bei Erwachsenen ein IU- Gehalt von 1,4 - 24 IU/mg Protein, mit einem Mittelwert um ca. 8,7 IU.

Bei Kindern ergab sich ein IU- Gehalt bezogen auf das Gesamtprotein von 2,1 - 36,2 IU/mg Protein, mit Spitzen über 75 IU/mg Protein. Der Mittelwert liegt bei ca. 14,4 IU/mg Protein. (Abb. 14)

Die von Hochstrasser und Reichert (1972) angegebenen Werte des Inhibitorgehaltes im Nasensekret Erwachsener ergeben einen Mittelwert von 17 IU/mg Protein.

Dieses Ergebnis wurde damals durch "Trockengewichtsbestimmungen" ermittelt und ist deswegen nur bedingt mit dem tieferliegenden Wert, der in der vorliegenden Arbeit ermittelt wurde, vergleichbar.

Weitere Untersuchungen sollten klären, ob spezifische Hinweise der einzelnen Sekretparameter bei Nasenschleimhauterkrankungen gefunden werden.

PROTEIN
%



Abbildung 14

IV. Diskussion der Ergebnisse

Die bisher in der Literatur beschriebenen Untersuchungen ließen wegen der komplizierten Nasensekretgewinnungsmethoden keine Direktbestimmungen und Absolutkonzentrationsmessungen zu.

Deshalb sind diese Ergebnisse mit den in dieser Arbeit angegebenen nur bedingt vergleich- und diskutierbar.

Auch bei den Untersuchungen zur quantitativen Nasensekretbestimmung nach Mygind und Melon muß mit relativ großen methodischen Fehlern gerechnet werden.

Mygind errechnete aus einer Reihe von Messungen durch Abwiegen der Gefäße, der Lösungsmittel und der eingelegten Filterpapierstreifen die Absolutmengen des gewonnenen Nasensekretes.

Berücksichtigt man, daß die Absolutmenge des Nasensekretes im Mikroliterbereich liegt, die Gewichte der Reagenzgläser und der Spülflüssigkeit jedoch im Milliliter- und Grammbereich, erklärt es sich, daß bereits kleine Meßfehler zu großen Veränderungen im Endergebnis der Sekretbestimmung führen.

Melon führte Trockengewichtsbestimmungen der einzelnen eingeführten Papierstreifen vor und nach Einlage in die Nase durch und entzog anschließend das Wasser in einem Exsikator.

Diese Methode war die geeignetste um Absolutbestimmungen bestimmter Stoffe im Nasensekret durchzuführen.

Mygind und Rossen geben in ihren Untersuchungen zur Gesamteiweißkonzentration Werte zwischen 80 mg% und 800 mg% an.

Die Werte, die hier direkt im Sekret gemessen wurden, liegen sowohl bei den Kindern als auch bei den Erwachsenen höher.

Die Differenz der Ergebnisse kann durch die unterschiedliche Abnahmetechnik und Proteinbestimmungsmethode erklärt werden.

Die unterschiedliche Eiweißkonzentration im mittleren und unteren Nasengang beruht auf einer Eindickung des Sekretes im unteren Nasengang.

Vergleichsergebnisse existieren in der Literatur nicht.

Bezüglich der IgA-Sekretion liegen die von uns ermittelten Werte annähernd in den von Ishizaka, Mygind, Lorin und Baumann angegebenen Bereichen.

Die von Widdicombe, Hobday und Butler angegebenen relativ hohen IgA-Anteile am Gesamtprotein von 9.5 % bis 50 % konnten nicht festgestellt werden. Der in der vorliegenden Arbeit ermittelte IgA-Anteil am Gesamtprotein Erwachsener beträgt ca. 2 - 5 % des ausgeschiedenen Gesamtproteins.

Die bisherigen Elektrolytbestimmungen zeigen, daß die Schwankungsbreiten für Kalium und Natrium relativ groß sind.

Vergleichsbestimmungen in der Literatur liegen nicht vor.

Ebenfalls gibt es keine Angaben über vergleichbare Ig G-Konzentrationen im Nasensekret.

Die breite Streuung aller Gruppen wird es schwierig machen, konkrete Schlüsse auf spezifische Erkrankungen zu ziehen.

Die diskelektrophoretische Auftrennung zeigt anhand der zahlreichen Banden bislang noch keine spezifischen Veränderungen, obwohl Serum und Nasensekret Unterschiede zeigen.

Eventuell könnte eine spezifische Glykoproteinfärbung mehr Aufschluß über die Zusammensetzung der Glykoproteine geben.

Über Proteaseinhibitoren im Nasensekret bei Kindern gibt es bislang keine Angaben in der Literatur.

Im normalen Sekret der Nase finden sich überwiegend freie Inhibitoren. Untersuchungen von Behbehani zeigen, daß es bei Entzündungen zu Komplexbildungen der Inhibitoren kommt, sodaß im Sekret freie und komplexierte Inhibitoren vorhanden sind.

In dieser Arbeit wurde zunächst die "freie" anti-tryptische Aktivität von Nasensekreten gemessen. Es ließen sich hierbei jedoch kaum altersspezifische Veränderungen anhand der großen Schwankungen nachweisen; doch sind sowohl Unterschiede zum Serum als auch interindividuell zu verzeichnen.

Die Befunde zeigen, daß das inhibitorische System der Nasenschleimhaut eine physiologische Funktion hat.

Möglicherweise werden Proteaseninhibitorparameter eines Tages über den Funktionszustand der Schleimhaut und dessen Effektivität Aufschluß geben können.

V. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es Ergebnisse über die Zusammensetzung des Nasensekretes von Kindern und Erwachsenen zu erstellen und diese miteinander zu vergleichen.

Es wurden dabei Immunglobulin A-, Immunglobulin G-Konzentrationen gemessen, Elektrolytbestimmungen sowie diskelektrophoretische Auftrennungen und Gesamtproteinkonzentrationen ausgeführt. Ferner wurden antitryptische Proteaseninhibitorkonzentrationen festgestellt und miteinander verglichen.

Dazu wurden 30 Erwachsene und insgesamt 83 Kinder untersucht.

Es wurde eine neue Nasensekret - Gewinnungsmethode verwendet, die im Vergleich zu den bisherigen in der Literatur angegebenen Abnahmemethoden, Direktbestimmungen im Nasensekret sowie eine routinemäßige Anwendung ermöglicht.

Die Konzentrationsunterschiede im Gesamtproteingehalt zwischen mittlerem und unterem Nasengang lassen auf einen Eindickungseffekt des Sekretes schließen.

Ferner ist eine Korrelation zwischen Sekretmenge und ausgeschiedener Eiweiß-, und Ig A- Menge zu verzeichnen.

Je mehr Flüssigkeit sezerniert wird, umso geringer sind die einzelnen Konzentrationen.

Bezüglich der Eiweißkonzentration finden sich bei den Erwachsenen Werte zwischen 400 mg% und 3600 mg%. Bei den Kindern liegen sie zwischen 150 mg% und 2800 mg%.

Die Durchschnittswerte waren mit ca. 1300 mg% annähernd gleich.

Die IgA-Konzentrationen Erwachsener liegen bei 6 mg% und 111 mg%; die der Kinder bei 8 - 138 mg% .

Die durchschnittliche Verteilung mit ca. 50 mg% ist ebenfalls in beiden Gruppen annähernd gleich.

Die Verteilung des IgA%- Anteils am Gesamtprotein liegt bei Kindern etwas höher.

Die IgG Konzentrationen befinden sie bei Erwachsenen zwischen 12 mg% und 366 mg%.

Bei Kindern liegen sie im Bereich von 4 mg% bis 370 mg%.

Die Durchschnittsverteilung des Ig G bei Kindern ist mit 55 mg% niedriger als bei den Erwachsenen mit 120 mg%.

Der % - Anteil am Gesamtprotein Erwachsener liegt zwischen 1,4% und 17,7%.

Bei Kinder liegt er zwischen 1,9% und 45%.

Bei den Elektrolytuntersuchungen lassen sich keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen zwischen Kindern und Erwachsenen verzeichnen.

Mit der diskelektrophoretischen Auftrennung lassen sich anhand zahlreicher Banden Unterschiede im Serum und Nasensekret aufweisen.

Im Nasensekret Erwachsener ergeben sich Protease -
Inhibitormessungen von 20 - 310 IU/ml.

Bei Kindern ergeben sich Werte von 5 - 650 IU/ml

Damit ist ein deutlicher Anstieg zu verzeichnen.

VI. Literaturverzeichnis

- Anderson, T.O., L.Riff, G.Jackson: Immunelectrophoresis of nasal secretions collected during a common cold. I. Immunol.89 (1962) 691
- Anggard, A., O.Densert: Adrenergic innervation of the nasal mucosa in cat. A histological and physiological study. Acta oto-laryng. (Stockh.) 78 (1974) 232
- Behringwerke AG.: LC-Partigen (R)-Immundiffusionsplatten für die quantitative Bestimmung der Immunglobuline IgG, IgA und IgM. Anleitung für LC-Partigen (R)-Platten
- Bellanti, J.: Amer. J. Dis. Childh. 115, 239 (1968)
- Benincaso, F.V., M.H.D.Smith: A suction-controlled nasal aspiration for collection of nasopharyngeal secretions. J. Pediat.82 (1973) 297
- Braun-Falco, F.: Über die Nasalmembran normaler und pathologisch veränderter Schleimhaut der oberen Luftwege, Z. Laryng.38 (1959)
- Braun-Falco, F.: Studien an der Grundsubstanz normaler und pathologischer Schleimhäute. Z. Laryng.39 (1960)
- Butler, W.T., R.D.Rossen, T.A.Waldmann: Mechanism of appearance of immunoglobulin A in nasal secretion in man. J.Clin. Invest.46 (1967) 1883-1893
- Cohen, A.B., S. Goldberger, R.L.London: Immunoglobulins in nasal secretions of infants. Clin.exp. Immunol.6 (1970) 753
- Eichner, H. et al.: Eine neue Methode zur Gewinnung von Nasensekret. Acta oto-rhino-laryngologica 1979
- Eichner, H., A.A.Behbehani, S.Schlett, K.Hochstraßer: Quantitative exfoliativ-zytologische Untersuchungen der menschlichen Nasenschleimhaut. Laryng. Rhinol. 62(1983)256

- Eichner, H., A.A.Behbehani, K.Hochstraßer: Nasensekretidiagnostik. Aktueller Stand. Normalwerte. Laryng.Rhinol. Otol. 62 (1983) 306
- Felgenhauer, K. u. Mitarb.: Elektrophorese von Serum und Liquor cer. in Polyakrylamid-Gel. Klin. Wschr. 45(1967) 371
- Fleming, A., V.D.Allison: Brit. J. Exp. Path. 13 (1922) 252
- Harper, Löffler, Pertrides, Weiss: Physiologische Chemie 1975, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York
- Hilding, A.C., E.Cowles: Amino acid composition of human nasal mucus, normal subjects. Ann. Otol. 82 (1975)
- Hobday, J.D., M.Cake, K.J.Turner: A comparison of the immunoglobins IgA, IgG and IgE in nasal secretions from normal and asthmatic children. Clin.Exp.Immunol. 9 (1971) 577-583
- Hochstrasser, K., R.Reichert: Hemmbarkeit proteolytischer Enzyme in pathologischen Nasensekreten und von Leukozytenproteasen durch den natürlichen Proteaseninhibitor des Nasensekretes. Z.Klin.Chem. und Klin.Biochem. 10 (1972) 104
- Hughes, E.C., R.L.Johnson: Circadian and inter-personal variability of IgA in nasal secretions. Ann. Otol. 82 (1973)
- Humphrey, J.H., R.G.White: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Thieme, Stuttgart 1972
- Ingelstedt, S., B.Ivstam: The source of nasal secretion in the normal condition. Acta oto-laryng. (Stockh.) 37 (1947) 445
- Ishizaka, K., R.W.Newcomb: Presence of IgE in nasal washings and sputums from asthmatic patients. J.Allergy 46(1970) 197

Jahnke, V.: Ultrastruktur der normalen Nasenschleimhaut des Menschen. Z.laryng. Rhinol. 51 (1972) 30

Jolles, P.: In: The Enzymes (Ed.: P.D.Boyer, H. Lardy, K.Myrbäck). Academic Press, New York, Inc.4 (1960) 431

Kabat, E.A.: Kabat and Meyer's experimental immun-chemistry, 2.d ed. Springfield (Ill); Charles C. Rhomas Publ. Kap. 7 (1961)

Lorin, M.I., P.F.Gaerlan, I.D.Mandel: Quantitative composition of nasal secretions in normal subjects. J.Lab.Clin.Med. 80 (1972) 275-281

Mancini, G., A.O.Carbonara, J.F.Heremans: Immun-chemistry 2 (1965) 235

Melon, J.: Contribution a l'etude de activite secretoire de la muqueuse nasale. Acta oto-rhino-laryng. belg. 22 (1968) 1

Messerklinger, W.: Die Nasalmembran der normalen und hypertrophen Schleimhaut der oberen Luftwege. Z.Laryng. 29 (1950)

Münzel, M., H. Eichner: Über den Einbau von S-markiertem Sulfat in die Nasenschleimhaut. Z.Laryng. Rhinol.52 (1973)

Münzel, M.: Tierexperimentelle autodiographische Untersuchungen zur Resorption von Aminosäuren in der Nasenschleimhaut. Anh.klin.exp. Ohr-,Nas.-, Kehlk. Heilk. 202 (1972)

Münzel, M., W.H.Naumann: Some new aspects of the resorption ability af the nasal mukosa. Int. Rhinol. 9 (1971) 111

Mygind, N., P.Bretlau: Scanning electron microscopic studies of the human nasal mucosa in normal persons and in patients with perennial rhinitis. Acta allerg. 28 (1973) 9-27

Mygind, N., J.Thomsen: Diurnal variation of nasal protein concentration. Acta oto-laryng. (Stockh.) 82 (1976) 219

Mygind, N. B.Weeke, S.Ullmann: Quantitative determination of immunoglobulins in nasal secretion. Int. Arch. Allergy 49 (1975) 99

Mygind, N.: Nasal Allergy. Blackwell Scientific. Put. Oxford (1978)

Nakashima, T., Y.Hamashima: Local immune system of nasal mucosa in inflammation. IgA distribution and secretory activity. Ann.Otol.Rhinol.Laryngol. 89 (1980) 140-147

Naumann, H.H.: Vergleichende Untersuchungen zur Drüsenausstattung verschiedener Schleimhautabschnitte bei Neugeborenen. Z.Laryng.Rhinol. 29 (1950)

Naumann, H.H.: Die Resorption im Bereich der Nasenschleimhaut. Fortschr.HNO-Heilk. 5 (1959) 107

Naumann, H.H.; W.H.Naumann: Kurze Pathophysiologie der Nase und ihrer Nebenhöhlen. In: Berendes, Link, Zöllner, HNO-Heilk. in Praxis u. Klinik, Bd.I. 2.Aufl. Thieme, Stuttgart (1977)

Naumann, H.H.: Die Mikrozirkulation in der Nasenschleimhaut. Thieme, Stuttgart 1977

Naumann, W.H., M.Münzel: Resorptionsmessungen an der Nasenschleimhaut des Kaninchens Arch.kli.exp. Ohr.-, Nas.-, Kehlk. Heilk. 191 (1968) 665

Ornstein, L.: Disc electrophoresis. I. Background and theory. Ann. N.Y. Acad. Sci.121 (1964) 321

Porter, R.R.: The structure of antibodies Sci. Amer. 217 (1967) 81

- Remington, J.S., H.L.Vosti, A.Leitze, A.L.Zimmermann: J. clin. Invest. 94 1613 (1964)
- Rossen, R.D., W.T.Butler, T.R.Cate, C.F.Szwed, R.B.Couch: Protein composition of nasal secretion during respiratory virus infection. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 119 (1965) 1169
- Schorf, K., K.Hochstrasser, J.Wittmann: Enzyme des Intermediärstoffwechsels im menschlichen Nasensekret bei physiologischem und pathologischem Zustand der Schleimhaut. Z. Laryng. Rhinol. 54 (1975)
- Schorf, K., K.Hochstrasser, V.Pasemann: Untersuchungen zur Transsudationsfähigkeit der menschlichen Nasenschleimhaut durch Bestimmung von Intermediärstoffwechselenzymen im Sekret bei verschiedenen inneren Erkrankungen. Laryng. Rhinol. 54 (1975) 659
- Smith, G.B., Purcell, R.H., J.A.Bellanti: New Engl. J. Med. 275 (1966)
- Sternberg, G: Die Veränderung der Nasenschleimhaut bei ausgeschalteter Nasenatmung. Z.f.HNO. 7 (1924) 432
- Terrahe, K., K.B.Backwinkel: Arch. klin.exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 197, 265 (1970)
- Tomasi, T.B., J.Bienenstock: Secretory immunoglobulins. Advanc. Immunol. 9 (1968) 1
- Tse, K.S., K.Wicher, C.E.Arbesmann: Effect of immunotherapy on appearance of antibodies to ragweed in external secretions. J.Allergy 51 (1973) 208
- Turk, A., L.M.Lichtenstein, P.S.Normann: Nasal secretory antibody to inhalant allergens in allergic and nonallergic patients. Immunology 19 (1970) 85
- Widdicombe, J.G., U.M.Wells: "Airway secretions" in D.F.Proctor, I.B.Andersen (eds.) "The Nose". Elsevier Amsterdam 9 (1982) 215

LEBENS LAUF

Name: Milchiker, Golda

geb. am: 12.07.1960 in München

Vater: Milchiker, Leo

Beruf: selbst. Kaufmann

Mutter: Milchiker, Sarina geb. Kupferberg

Beruf: Hausfrau

Ausbildung: von 1966- 1970 Besuch der Grundschule am Mars-
platz, München

von 1971 - 1980 Besuch des Städt. Adolf- Weber-
Gymnasium, München

von 1980- 1986 Studium der Medizin an der
Ludwig- Maximilians- Universität, München.

